AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
UND DER LANDESKINDERKLINIK NEUNKIRCHEN-KOHLHOF
(Direktor: Prof. Dr.med. J.B. MAYER)
und dem
INSTITUT FÜR BIOPHYSIK DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
(Direktor: Prof. Dr. rer.nat. H. MUTH)

Die Abgabe der Aminosäure Methionin des Bacterium bifidum an den Wirtsorganismus nach Einbringen von lebenden mit markiertem Methionin beladenen Bifidumkeimen in das Duodenum der Ratte.

(Ein Beitrag zum Stoffaustausch zwischen Mikroorganismus und Makroorganismus).

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Jörg Wunderwald

Dekan: Prof. Dr.med. F. LOEW

Referent: Prof. Dr.med. J.B. MAYER

1968
1969

AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
UND DER LANDESKINDERKLINIK NEUNKIRCHEN-KOHLHOF
(Direktor: Prof. Dr.med. J.B. MAYER)
und dem
INSTITUT FÜR BIOPHYSIK DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
(Direktor: Prof. Dr. rer.nat. H. MUTH)

Die Abgabe der Aminosäure Methionin des Bacterium bifidum an den Wirtsorganismus nach Einbringen von lebenden mit markiertem Methionin beladenen Bifidumkeimen in das Duodenum der Ratte.

(Ein Beitrag zum Stoffaustausch zwischen Mikroorganismus und Makroorganismus).

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Jörg Wunderwald

Dekan: Prof. Dr.med. F. LOEW

Referent: Prof. Dr.med. J.B. MAYER

1 9 6 8

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung fand am 6. Febr. 1969 statt.

Meinem Vater

in Dankbarkeit gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542726_0035

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	
	1. Besprechung der Literatur	3
	2. Fragestellung	6
II.	MATERIAL UND VERSUCHSMETHODIK	
	1. Benutztes Radionuklid	9
	2. Bakterien und Nährlösung	9
	3. Trennung der Nährlösung	10
	4. Veraschung der Leber	10
	5. Herstellung der Präparate	11
III.	MESSMETHODIK	
	1. Meßgerät	12
	2. Korrektur der Meßwerte	13
IV.	EIGENE VERSUCHE	
	1. Leerversuch	19
	2. Hauptversuch	19
	3. Operation der Ratten	20
V.	DISKUSSION DER METHODIK	21
VI.	ERGEBNISSE	23
VII.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	30
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	33
	LITERATUR	34

I. EINLEITUNG

1. Besprechung der Literatur.

Seit einem halben Jahrhundert beschäftigen sich Pädiater wie auch Mikrobiologen mit dem grampositiven Stäbchen Bacterium bifidum, jenem Mikroorganismus, der beim Brustkind einen Indikator für das gute Gedeihen des Säuglings darstellt. In den letzten Jahren wurden zahlreiche biochemische Eigenschaften erforscht, die einen Hinweis auf eine echte Symbiose zwischen Mikroorganismus und Makroorganismus geben. So wird durch Produktion verschiedener organischer Säuren der pH-Wert in den unteren Darmabschnitten niedrig gehalten, was eine wichtige Schutzfunktion vor pathogenen Keimen bedeutet. J.B. MAYER spricht geradezu von einem antibiotischen Prinzip und nennt das B.b. wegen seiner Nützlichkeit für das Kind einen "Eubionten". Bisher ist die Bildung von sieben Vitaminen der B-Gruppe bekannt geworden. (KOCH, SCHWARZ, MAYER; LIEBSCHER). Nach den Untersuchungen von THURAU garantiert das B.b. ferner eine bessere Aufspaltung des Nahrungseiweißes und fördert eine bessere intermediäre Verwertung desselben. ADAM weist darauf hin, daß Bifidumbakterien einen geringeren Eigenbedarf an Aminosäuren haben als Colibakterien. Es sei wahrscheinlich,

daß beim Vorhandensein einer Bifidumflora im Darm der Säugling mehr Aminosäuren für seinen Eigenbedarf erhalte als bei einer Mischflora, wie sie das Flaschenkind aufweist. Die bessere Aminosäureverwertung gestatte dem Säugling, trotz des niedrigen Eiweißgehaltes seiner Nahrung optimal zu gedeihen. Über eine Vermutung in dieser Richtung ist die bisherige Forschung jedoch nicht hinausgekommen. Beim Menschen beobachten wir deutliche Wechselbeziehungen zwischen Mikroorganismus und Makroorganismus lediglich bei den pathogenen Keimen, doch haben die meisten Veröffentlichungen hier das klinische Bild in den Vordergrund gerückt und dabei vielfach die Beziehungen zwischen Darmkeim und Darmwand weniger gründlich erfaßt. Zwar sind die Veränderungen im Darm bei der Tuberkulose, bei Ruhr, Typhus und Paratyphus recht gut bekannt, doch wissen wir z.B. wenig über den Wirkungsmechanismus des Dyspepsie-Coli in seinem Angriff auf den Säugling. Über Wechselbeziehungen mit den zahllosen Keimen, mit denen wir das ganze Leben hindurch zusammen leben, wissen wir nichts (MAYER).

Nach ROMAHN sind im Zelleib des B.b. sämtliche essentiellen und nicht essentiellen Aminosäuren außer Tryptophan enthalten. Für letzteres bleibt nach DITTMANN ein Nachweis noch aus, da es wahrscheinlich schon vor der chromatographischen Analyse beim Zellaufschluß durch HCl zerstört wird, indem der Ring des Moleküls gesprengt wird. B.b. ist besonders reich an S-haltigen Aminosäuren. So konnten KANDLER und ZEHENDER bei Coli kein Methionin nachweisen, während im B.b.-Hydrolysat durchaus nennenswerte Mengen zu finden sind. Bekanntlich stellt das Methionin, dessen Methylgruppen in der Leber offenbar zum Aufbau von Cholin verwendet werden, eine lipotrope Substanz dar. So bezeichnet BEST alle Stoffe, die eine Anhäufung von Fett in der Leber verhindern. Hierher gehört auch das Cholin selbst, das übrigens als Chlorid ebenfalls vom B.b. synthetisiert wird (KOCH, SCHWARZ, MAYER).

Noch deutlicher ist der Unterschied im Cystin-Gehalt: Coli enthält kein Cystin, B.b. in großen Mengen.

Das Bifidum-Eiweiß stellt also ein biologisch hochwertiges Eiweiß dar. Inwieweit diese Aminosäuren dem

Säuglingsorganismus zugute kommen, ist bisher noch nicht geklärt. Erste orientierende Vorversuche in dieser Richtung wurden von WEIS und SEIDEL unternommen, die B.b. mit radioaktiv markierten anorganischen Verbindungen "fütterten" und die Resorption bifidumeigenen Materials untersuchten.

2. Fragestellung.

In Anlehnung an die Versuchsreihe von SEIDEL, der anorganischen radioaktiven Phosphor in den Zelleib von B.b. einbaute, Ratten in den Magen einsondierte und anschließend im Blut und verschiedenen Organen eine hohe Aktivität als Ausdruck einer starken Resorption registrierte, drängt sich nunmehr die Frage auf, ob organische Substrate im einzelnen nach Absterben und Auflösung der Zelleiber im Darm zur Resorption gelangen, bzw. ob B.b. noch in vitalem Zustand aktiv in den Stoffwechsel des Wirtsorganismus eingreift. Da wir nun einerseits durch ROMAHN über das Aminosäurenmuster von B.b. informiert sind, andererseits über VIRTANEN und NURMIKKO wissen, daß die gewaltige Mikrobenflora des Pansens die Totalsynthese von Protein zustande-

bringt, richten wir in dieser Arbeit unser Augenmerk auf jene schwefelhaltige Aminosäure Methionin, die für den Menschen essentiell ist und zugleich einen wesentlichen Bestandteil des Zellhydrolysates von B.b. ausmacht.

Zu diesem Zweck "verfüttern" wir Schwefel-markiertes industriell zugängliches L-Methionin-S35 aus dem "Radiochemical Centre" in Amersham/England, das in Deutschland über die "Farbwerke Hoechst"/Frankfurt lieferbar ist. Dieses radioaktive Methionin geben wir in die Nährlösung und lassen es in dreitägiger Bebrütung auf das B.b. einwirken. Unsere Versuchsanordnung soll drei einander bedingende Hauptfragen angehen:

1) Nimmt B.b. aus der Nährlösung einen Teil des zugeführten Methionins auf, bzw. ist dieser Teil überhaupt meßbar ?

2) Wird eine definierte Menge einer radioaktiven Methioninlösung, die Ratten intraduodenal injiziert wird, vom Darm resorbiert, bzw. wie hoch muß man die Aktivität einer Injektionslösung ansetzen, um die energiearme ß-Strahlung in Blut und Leber messen zu können ?

3) Wird Methionin nach Inkorporierung in den Zelleib von B.b. und anschließender direkter Injektion in das Duodenum vom Rattendarm aus in irgendeiner Form resorbiert, bzw. wie hoch ist die Resorptionsrate verglichen mit dem Parallelversuch (2), wo Methionin-S35 in physiologischer Kochsalzlösung intraduodenal verabreicht wurde ? -

Die Säure- und Fermentschranke des Magens als evtl. modifizierender Faktor wird absichtlich ausgeklammert; sie ist Gegenstand der Dissertation von Herrn SALAHI-ARAB. Infolge der Subazidität des Säuglingsmagens stellt sie wohl kein Hindernis auf dem Wege der oralen Besiedlung dar (MAYER). Was die Fermentschranke im besonderen anlangt, so weist CUMMINS auf die Resistenz der Zellwände von B.b. gegenüber den proteolytischen Enzymen des Magens hin.

II. MATERIAL UND VERSUCHSMETHODIK*)

1. Benutztes Radionuklid.

Als radioaktiv markierte Aminosäure wählten wir das L-Methionin-S35, das in sterilisierter wässeriger Lösung vorliegt. Die Gesamtmenge beträgt o,66 mg mit einer spezifischen Aktivität von 119 mc/mM. Die totale Aktivität, in unserem Falle vom Hersteller auf den 24.8.1966 berechnet, beläuft sich auf o,53 mc. Schwefel 35 ist ein reiner energiearmer ß-Strahler mit einer maximalen Energie von o,167 MeV und hat eine Halbwertzeit von 87 Tagen.

2. Bakterien und Nährlösung.

Da es bei unseren Versuchen auf große Mengen Bifidum-Material ankam, verwandten wir Mischkulturen des Types TISSIER und B.b.-6, die wir auf der Leberplatte nach MAYER anaerob bei 37°C züchteten. Nach regelmäßiger wöchentlicher Überimpfung in TOMARELLI-Lösung legten wir nach einem Monat unsere insgesamt vier Kulturen zusammen und engten die Nährlösung auf 20 bzw. 25 ml ein. Nunmehr setzten wir Methionin

---

*) Die Versuchsanordnung, die Meßmethodik und Technik wurden gemeinsam mit Herrn SALAHI-ARAB erarbeitet.

in Aktivitäten von 6,8 und 8,6 uc/ml Nährlösung hinzu und ließen 72 Stunden bebrüten.

3. Trennung der Nährlösung.

Um die an den Zellwänden haftende Aktivität zu beseitigen, zentrifugierten wir das B.-Material 2o min. mit 3ooo U/min. und nahmen anschließend eine viermalige Waschung mit physiologischer NaCl vor. Auf eine Nachwaschung mit destilliertem Wasser verzichteten wir, um cytolytische Vorgänge ganz auszuschließen. Daß durch diese Methode außen am Zelleib haftende markierte Substanzen entfernt werden können, haben schon WEIS und SEIDEL bewiesen.

4. Veraschung der Leber.

Nachdem bei einer Modellveraschung von Schweineleber mit starken Öxysäuren einerseits 9o % der beigemengten aktiven Substanz verloren ging, andererseits sich nach HERRMANN Methionin nur schwer zu Sulfat oxydieren läßt, wie es die echte Veraschung eigentlich verlangt, wählten wir die alkalische Pseudoveraschung, die sich bei flüchtigen Elementen wie Halogenen und Schwefel bewährt hat.

Hier wird auf eine Fällung des nachzuweisenden radioaktiven Elementes in ein anorganisches Salz verzichtet, statt dessen stellt man sich ein möglichst homogenes Zellhydrolysat her. Wir gingen dabei folgendermaßen vor: Wir wogen uns 1-2 g der zu veraschenden Rattenleber ab, legten sie in das Veraschungsgefäß und schnitten sie in kleine Stückchen, die wir dann noch mit einem Mörserkolben zerquetschten. Anschließend bedeckten wir die Masse je nach Gewicht mit 1o-2o ml 1,5 normaler KOH und erhitzten bei niedrigster Flamme eine halbe Stunde lang über einem Bunsenbrenner. Um die bei der Pseudoveraschung stark ins Gewicht fallende Selbstabsorption der ß-Strahlung einzudämmen, eliminierten wir Fett, Parenchym- und Bindegewebsbestandteile, indem wir das eben aufgelöste Lebersubstrat eine halbe Stunde lang mit 3ooo U/min. zentrifugierten. Die Gewebsanteile erscheinen als Bodensatz, das Fett schwimmt oben und wird vorsichtig mit Zellstoff abgetupft.

5. Herstellung der Präparate.

Während wir Serum und den mit physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmten Bifidumbrei direkt in die Meßschälchen aus Edelstahl einpipettierten, dampften wir das

braune klare Leberhydrolysat mittels eines Föns erst noch zu einem sirupartigen Extrakt ein. Bei zu heftigem Eindampfen bildeten sich besonders gegen Ende zu Kalium-Seifen und denaturierte Eiweißkörper, die eine exakte Messung unmöglich machen. Die Präparate wurden anschließend 12 Stunden luftgetrocknet, die Leberproben danach noch einmal dem Fön ausgesetzt, da sie sich als hygroskopisch erwiesen, was wiederum eine genaue Messung beeinträchtigt hätte.

III. MESSMETHODIK

1. Meßgerät.

Für die Messung wurde ein "Low level Beta counter" der Firma "Tracerlab" verwendet, der gestattet, noch sehr kleine ß-Strahl-Aktivitäten zu registrieren. In diesem Gerät ist das Meßzählrohr von einem Ring zusätzlicher Zählrohre umgeben; bei Einwirkung kosmischer Strahlung kommt es gleichzeitig zur Auslösung eines Impulses in einem der Zählrohre des Abschirmringes sowie im eigentlichen Meßzählrohr. Durch die nachgeschaltete Antikoinzidenzstufe werden solche Impulse eliminiert. Hierdurch wird eine beträchtliche Herabsetzung des Nulleffektes erreicht, der bei 3 Imp/min. liegt.

Die mittlere Meßausbeute, die wir mit Methionin-S35 Präparaten in jeweils verschiedener Konzentration und Flächenbelegung ermittelten, beträgt 23,6 %. Die Messung erfolgt mit automatischem Probenwechsel, wobei die Ergebnisse direkt ausgedruckt werden. Die Meßdauer wählten wir in Abhängigkeit von der Aktivität der Proben, bzw. des daraus zu berechnenden statistischen Fehlers der Einzelmessung $M = \pm V \quad N$, wobei N die Impulszahl bedeutet: Für die Bifidumproben, wo der mittlere statistische Fehler unter 1 % lag, 1 Minute, für die Serum- und Leberproben, wo er zwischen 2,3 % und 16,2 % lag, 3o Minuten.

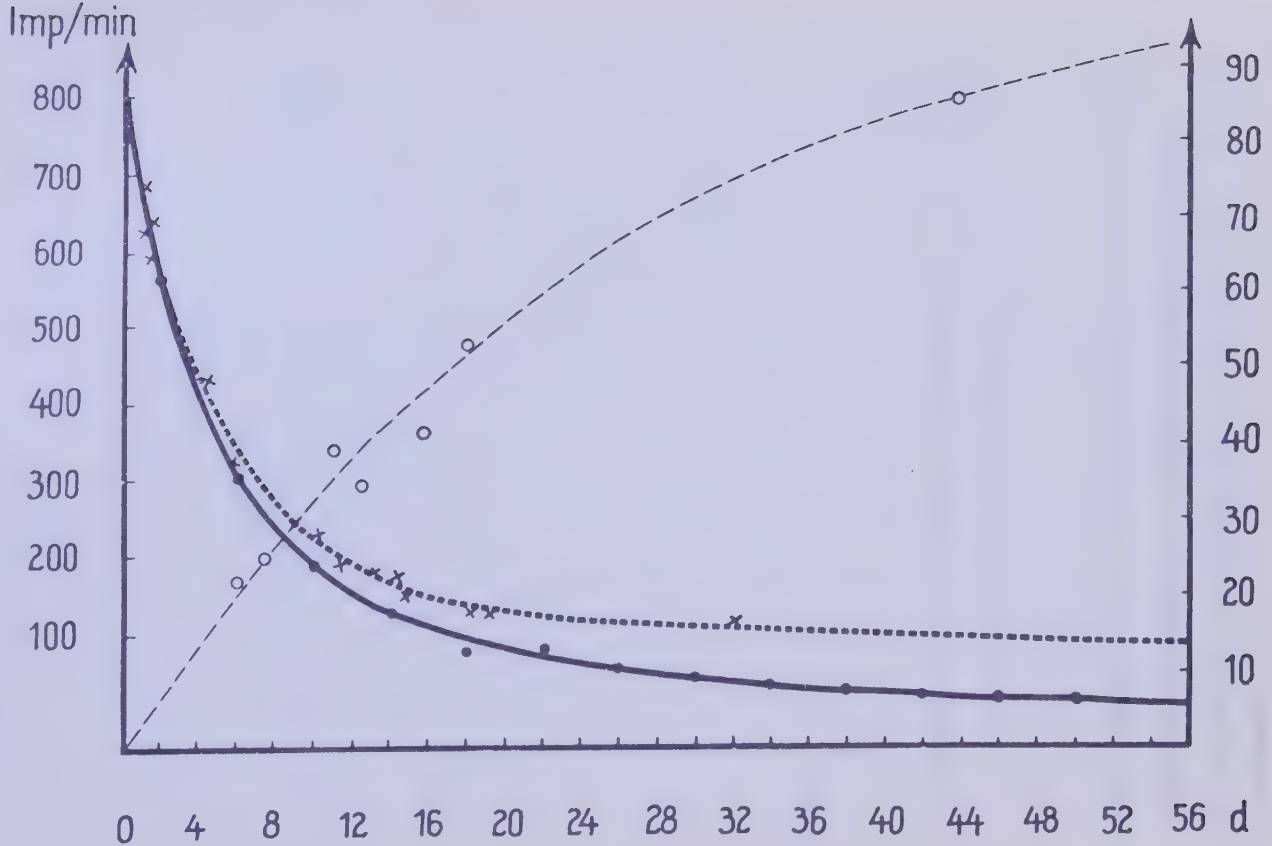
2. Korrektur der Meßwerte.

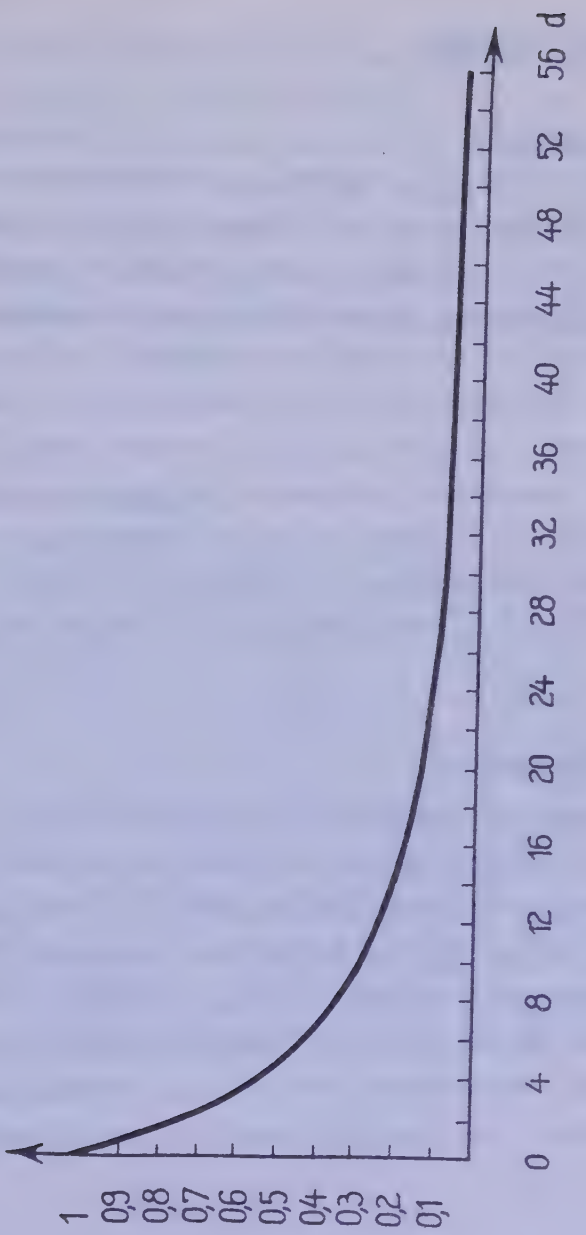
Wegen der starken Selbstabsorption unseres energiearmen ß-Strahlers muß jeder Meßwert mit einer Korrektur versehen werden, zumal wir oberhalb der "kritischen Schichtdicke" (d = o,o66 mg/cm^2) arbeiten. Zu diesem Zweck ist jedesmal das Leergewicht und anschließend das Vollgewicht des Schälchens zu bestimmen. Nach Messung des mittleren Radius der belegten Fläche läßt sich die Schichtdicke d (mg/cm^2) mit Hilfe der ermittelten Größen errechnen. Da nun die "wirkliche Impulszahl" N_o interes-

siert, heißt es eine für unsere Versuchsreihe gültige Relation zwischen der gemessenen Impulszahl N_d und der "wirklichen Impulszahl" N_o zu finden. Zu diesem Zweck pipettieren wir auf zehn Meßschälchen aufsteigende Mengen veraschter inaktiver Rattenleber und untermischen diese mit je o,1 ml einer definierten Methioninverdünnung. Zwei Vergleichsproben reinen Methionins liefern uns die "wirkliche Impulszahl" N_o, die wir dann zusammen mit denen der Leberpräparate in ihren jeweiligen Schichtdicken graphisch auftragen. In einem zweiten Korrekturgang müssen wir nun noch die natürliche Radioaktivität von Kalium berücksichtigen, da wir zur Veraschung der Leber KOH verwandten, die ab einer bestimmten Schichtdicke der Leberpräparate einen nicht unerheblichen Störfaktor unserer Meßwerte darstellt. Nach einer zweiten Veraschung inaktiver Rattenleber stellen wir uns wiederum zehn Meßproben in zunehmender Schichtdicke her und nehmen eine "Sättigungskurve" für Kalium auf. Durch anschließende Subtraktion der Impulse beider Meßserien in jeweils gleicher Schichtdicke erhalten wir dann die Korrekturwerte für unsere "Absorptionskurve". Nun tragen wir in einer definitiven "Selbstabsorptionskurve" den jeweils errechneten

Quotienten $N_d : N_o = f_s$, der unseren gesuchten "Selbstabsorptionskoeffizienten" darstellt, gegen die verschiedenen Schichtdicken auf und können so für jedes N_d unser gesuchtes N_o berechnen.

(Siehe hierzu die folgenden Eichkurven auf S. 16 u. 17).


Imp/min
800
700
600
500
400
300
200
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
48
52
56
d


1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
4
8
12
16
20
24
28
32
36
40
44
48
52
56 d

IV. EIGENE VERSUCHE

1. Leerversuch.

Zuerst galt es zu eruieren, in welchem Maße die Ratte Methionin-S35, das ins Duodenum eingebracht wird, resorbiert. Zu diesem Zwecke stellten wir uns mittels physiologischer Kochsalzlösung eine Methioninverdünnung von o,4 uc/ml für den ersten, von 1,4 uc/ml für den zweiten und dritten Leerversuch her und zogen jeweils 1 ml davon in eine 2 ccm Injektionsspritze auf. Anschließend injizierten wir die Lösung drei Ratten ins Duodenum. Um die Resorptionsmenge in verschiedenen Zeiten zu erfahren, töteten wir die Tiere nach 5, 10 und 20 Stunden (s. hierzu Tab. 1-3).

2. Hauptversuch.

Nachdem wir Methionin-S35 im Zelleib von B.b. inkorporiert und die an den Zellwänden haftende Aktivität nach oben beschriebener Methodik entfernt hatten, teilten wir von dem breiähnlichen gewaschenen Bifidum-Zentrifugat zwei genau gleiche Portionen ab. Der eine Teil wurde in eine 2 ccm Injektionsspritze aufgezogen und wiederum drei Ratten intraduodenal injiziert, die ebenfalls nach 5, 10 und 20 Stunden ge-

tötet wurden. Das Volumen des jeweils injizierten Breies bemaßen wir dabei auf maximal 2 ml; die verabreichten Aktivitäten betrugen 1,1 uc beim ersten, o,85 uc beim zweiten und dritten Versuch (s. hierzu Tab. I - III). Den anderen Teil des Bifidum-Zentrifugates pipettierten wir in zwei Meßschälchen, um die Aktivität der injizierten Bakterienaufschwemmung zu ermitteln.

3. Operation der Ratten.

In Äthernarkose wurde unterhalb des Sternums ein 5 cm langer Schnitt in der Medianebene angelegt, dann das Duodenum freigelegt und im spitzen Winkel in kaudaler Richtung angestochen. Durch Spontankontraktion und späterer Bildung eines Blutkagulums schließt sich die Einstichstelle wieder. Danach reponierten wir die Eingeweide wieder vorsichtig mit zwei stumpfen Pinzetten, legten unter Verwendung von "Sterilozwirn" eine Muskelnaht an und schlossen die Haut mit Spezialklämmerchen. - Beim Hautschnitt muß peinlichst auf die arteria epigastrica geachtet werden, da deren Verletzung eine umgehende Verblutung des Tieres zur Folge hätte. Nach Ablauf der gewählten Versuchszeit entfernten wir die Klämmerchen, öffneten die Naht mit Schere und spitzer Pinzette und schnitten den Thorax median auf. Mittels einer Brustwandklemme legten wir uns dann das Herz frei und entnahmen durch Punktion des rechten Ventrikels maximal 1,6 ml Blut, wobei wir die Herzspitze in Richtung Basis anstachen. Der Tod trat durch Ausbluten in knapp dosierter Äthernarkose ein. Die Ratten sind jeweils 24 Stunden vor den Versuchen nüchtern zu halten, um die Resorptionsbedingungen möglichst zu standardisieren.

V. DISKUSSION DER METHODIK

Wir sind uns klar darüber, daß unsere Versuchsanordnung nicht ganz den natürlichen Gegebenheiten entspricht, da B.b. in größeren Mengen nur in den unteren Darmabschnitten zu finden ist, in unseren Experimenten jedoch ins resorptiv wirksamste Duodenum injiziert wird. Es sei aber mit MAYER darauf hingewiesen, daß die meisten oral zugefütterten Bifidumbakterien lebensfrisch in den Dickdarm gelangen und sich dort bei adäquatem Milieu vermehren; trotzdem wollten wir die Magenpassage umgehen. Durch die peristaltischen Wellen werden die Bifida unentwegt in Richtung Dickdarm befördert. Diese Beobachtungen gelten für den Menschen und auch für die weiße Ratte (MAYER). Über eine mögliche Population von Bakterien in den oberen Darmabschnitten berichtet neuerdings REUTER. Befunde von ihm zeigen, daß eine Keimbesiedlung im Dünndarm und selbst im Magen in grösserem Umfange bestehen kann, als bisher angenommen wurde, und daß eine individuelle Prägung dieser Flora besteht. Eine Beeinflußbarkeit der Darmflora durch oral zugeführte Mikroorganismen, wie sie übrigens MAYER seit mehr als 20 Jahren praktiziert, hält REUTER für möglich,

obwohl in der neueren Literatur die Möglichkeit einer Magenpassage gänzlich in Frage gestellt wird (zit. nach REUTER).

Aus den Untersuchungen von CUMMINS geht weiterhin hervor, daß die Zellwände von B.b. durch Trypsin und Pepsin nicht aufgespalten werden. Die Möglichkeit einer oralen Zufütterung von Bifidumbakterien findet Anwendung bei der ersten bifidogenen Milchnahrung "Lactana B", die lebende Keime, Bifidumwuchsstoffe und eine Zusammenstellung der Nährstoffe enthält, die im gesunden Säuglingsdarm in 2 - 4 Tagen eine ebenso schöne Bifidumflora erzeugt wie Frauenmilchernährung (MAYER). An sich ist diese orale Zufütterung nichts prinzipiell Neues, erfolgt sie doch in Analogie zur natürlichen Ernährung (MOSER).

VI. ERGEBNISSE

Es wurden drei Doppelversuche mit weißen Ratten unternommen, bei denen die Resorption von Methionin-S35 in physiologischer Kochsalzlösung bzw. nach Einbau in den Zelleib von B.b. geprüft wurde. Die Resorptionszeiten, d.h. die Zeitspanne zwischen intraduodenaler Injektion und Töten der Ratten lagen bei 5, 10 und 20 Stunden. In den folgenden Tabellen werden die Strahlungsmengen des unmittelbareren Vergleiches wegen nicht in Curie, sondern in Impulsen pro Minute angegeben. Dabei gilt unter Berücksichtigung der Meßausbeute unseres Zählrohres von 23,6 % die Beziehung:
1 uc (Mikrocurie) $3{,}7 \times 10^3 \times 6 \times 23{,}6$ Impulse pro Minute.
Die Tabellen 1-3 bzw. I-III enthalten die direkten Meßwerte, wobei:

Sch.	=	Meßschälchen
S.	=	zu messendes Serum
Gew.	=	Trockengewicht von zu messendem Serum bzw. Leber in mg.
d	=	Schichtdicke der Meßprobe in mg/cm^2
N_d	=	gemessene Impulszahl pro Minute
N_o	=	"wirkliche" Impulszahl pro Minute (berechnet aus der "Selbstabsorptionskurve" sowie der "Sättigungskurve")

bedeutet.

Tabelle 1: zeigt den ersten "Leerversuch" mit den Impulsraten in insgesamt 1,6 ml Serum (verteilt auf 4) und 1,2 g Leber (verteilt auf 3 Meßschälchen), nach einer Resorptionszeit von 5 Stunden. Injiziert wurde 1 ml einer Methionin-S35 Lösung mit einer Aktivität von o,4 uc/ml, was 2o95oo Imp/min. entspricht.

	SERUM				LEBER		
Sch.	1	2	3	4	a	b	c
ml S.	o,1	o,5	o,5	o,5			
Gew.	9	47	48	49	179	3o7	566
d	o,92	3,8	3,95	4,1	18,6	28,5	44,6
N_d	38	112	114	121	58	72	98
N_o	44	2o4	251	224	42	1o	2oo

Tabelle I: zeigt den ersten "Hauptversuch" mit den Impulsraten in insgesamt 1,4 ml Serum und 1,5 g Leber nach einer Resorptionszeit von 5 Stunden. Die Aktivität der injizierten Bifidumaufschwemmung betrug 58oooo Imp/min., was 1,1 uc entspricht.

	SERUM				LEBER		
Sch.	1	2	3	4	a	b	c
ml S.	o,1	o,3	o,5	o,5			
Gew.	8	25	49	44	351	419	567
d	o,77	2,o2	4,81	4,4	33,4	33,6	45
N_d	313	699	951	958	283	286	286
N_o	352	972	194o	188o	243o	247o	3o7o

Tabelle 2: zeigt den zweiten "Leerversuch" mit den Impulsraten in insgesamt 1,2 ml Serum und 2 g Leber nach einer Resorptionszeit von 10 Stunden. Injiziert wurde 1 ml einer Methionin-S35 Lösung mit einer Aktivität von 1,4 uc/ml, was 733ooo Imp/min. entspricht.

	SERUM				LEBER		
Sch.	1	2	3	4	a	b	c
ml S.	o,2	o,2	o,3	o,5			
Gew.	15	16	24	42	463	557	565
d	1,19	1,15	2,12	3,33	36,7	46,4	44,8
N_d	955	9o8	1199	1688	326	329	337
N_o	115o	1o92	1576	286o	3o9o	374o	3875

Tabelle II: zeigt den zweiten "Hauptversuch" mit den Impulsraten in insgesamt 1,5 ml Serum und 2 g Leber nach einer Resorptionszeit von 10 Stunden. Die Aktivität der injizierten Bifidumaufschwemmung betrug 445ooo Imp/min., was o,85 uc entspricht.

	SERUM				LEBER		
Sch.	1	2	3	4	a	b	c
ml S.	o,1	o,4	o,5	o,5			
Gew.	9	25	29	3o	537	563	853
d	o,71	1,98	2,3	2,4	38,6	4o,6	61,4
N_d	237	626	664	771	171	172	186
N_o	266	868	962	1132	12oo	125o	1655

Tabelle 3: zeigt den dritten "Leerversuch" mit den Impulsraten in insgesamt 1,2 ml Serum und 2 g Leber nach einer Resorptionszeit von 2o Stunden. Injiziert wurde 1 ml einer Methionin-S35 Lösung mit einer Aktivität von 1,4 uc/ml.

	SERUM				LEBER		
Sch.	1	2	3	4	a	b	c
ml S.	o,1	o,3	o,3	o,5			
Gew.	8	24	28	39	458	526	541
d	o,71	1,95	2,5	3,1	38,5	42	38,9
N_d	577	1111	12o1	1528	389	413	436
N_o	641	1526	1791	246o	387o	471o	443o

Tabelle III: zeigt den dritten "Hauptversuch" mit den Impulsraten in insgesamt o,5 ml Serum und 2 g Leber nach einer Resorptionszeit von 2o Stunden. Die Aktivität der injizierten Bifidumaufschwemmung betrug 445ooo Imp./Min., was o,85 uc entspricht.

	SERUM				LEBER		
Sch.	1	2	3	4	a	b	c
ml S.	o,1	o,1	o,1	o,2			
Gew.	12	11	12	17	529	691	76o
d	o,95	o,96	o,95	1,35	42	47,6	64,7
N_d	1o9	113	114	144	248	251	3o7
N_o	128	133	134	177	2341	2521	358o

Da nun interessiert, welcher Prozentsatz der jeweils im Haupt- und Leerversuch eingebrachten radioaktiven Substanz sich in Blut und Leber der Ratte befindet, rechnen wir unsere gemessenen Impulsquoten auf das Gesamtserum bzw. die Gesamtleber um und setzen dann der Übersichtlichkeit halber die Impulszahl von injiziertem Methionin bzw. Bifidumbrei gleich 1oo %.

Tabelle IV: gibt unter Berücksichtigung der Regel, daß die Gesamtmenge des Rattenblutes etwa 1/2o des Körpergewichtes ausmacht, und daß der "Rattenhämatokrit" bei 4o liegt, eine Zusammenstellung unserer Versuchstiere:

	Gewicht	Leber	Blut	Serum
1. Ratte	2o2 g	8 g	1o,1 ml	6,o6 ml
2. Ratte	2oo g	8 g	1o ml	6 ml
3. Ratte	311 g	8,8 g	15,5 ml	9,3 ml
4. Ratte	341 g	8,96 g	17,1 ml	1o,2 ml
5. Ratte	349 g	8,4 g	17,4 ml	1o,4 ml
6. Ratte	333 g	7,9 g	16,6 ml	1o ml

Tabelle V: bietet eine Gegenüberstellung des jeweiligen Haupt- und Leerversuches mit der prozentualen Resorptionsrate in Gesamtserum und Gesamtleber der Ratte nach 5 Stunden. Dabei bedeutet:

Meth. = Impulszahl/min der injizierten Methioninlösung im Leerversuch, berechnet aus der totalen Aktivität der Stammlösung unter Abzug der jeweiligen auf den Versuchstag bezogenen Zerfallsrate von S-35, wobei dann noch die mittlere Meßausbeute unseres Meßgerätes von 23,6 % berücksichtigt werden muß; denn verglichen werden ja nur die gemessenen Impulszahlen.

Bif. = Impulszahl/min. des injizierten Bifidumbreies im Hauptversuch;

Serum = Impulszahl/min. des Gesamtserums;

Leber = Impulszahl/min. der Gesamtleber.

1. Leerversuch			I. Hauptversuch		
Meth.	Serum	Leber	Bif.	Serum	Leber
2o95oo	273o	2o16	58oooo	22ooo	4248o
1oo %	1,35%	o,96 %	1oo %	1,79 %	7,3 %

Tabelle VI: bietet eine Gegenüberstellung des jeweiligen Haupt- und Leerversuches mit der prozentualen Resorptionsrate in Gesamtserum und Gesamtleber der Ratte nach 10 Stunden:

2. Leerversuch			II. Hauptversuch		
Meth.	Serum	Leber	Bif.	Serum	Leber
733ooo	518oo	471oo	445ooo	2o2oo	1836o
1oo %	7,72 %	6,41 %	1oo %	4,23 %	4,12 %

Tabelle VII: bietet eine Gegenüberstellung des jeweiligen Haupt- und Leerversuches mit der prozentualen Resorptionsrate in Gesamtserum und Gesamtleber der Ratte nach 2o Stunden:

3. Leerversuch			III. Hauptversuch		
Meth.	Serum	Leber	Bif.	Serum	Leber
733ooo	56ooo	546oo	445ooo	1344o	3330o
1oo %	7,63 %	7,43 %	1oo %	3,o2 %	7,48 %

VII. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Es wurden drei Doppelversuche mit sechs weißen männlichen Ratten gemacht, wobei nach operativer Freilegung des pylorusnahen Duodenumabschnittes L-Methionin-S35 bzw. damit markierte Bifidumbakterien injiziert wurden. Wir wählten drei Resorptionszeiten, und zwar nach 5, 10 und 20 Stunden und verwandten möglichst gewichts- und altersentsprechende Tierpaare, so daß ein Vergleich möglich ist. Nach 5 Stunden ist beim Leerversuch 1,35 %, beim Hauptversuch 3,79 % der eingebrachten aktiven Substanz im Serum. Noch unterschiedlicher sind die Resorptionswerte in der Leber, wo beim Hauptversuch bereits 7,31 %, beim Leerversuch erst o,96 % der eingebrachten Aktivität nachweisbar ist. Nach 10 Stunden sind Serum- und Leberimpulsraten beim Leerversuch jeweils höher, nach 20 Stunden erreichen beide Leberwerte ein gleiches Maximum. Die Versuchsreihe deutet insbesondere mit ihren Leberwerten darauf hin, daß weniger ein Unterschied in der definitiven Resorptionsrate, als vielmehr in der initialen Resorptionsgeschwindigkeit besteht, zumal nach 5 Stunden das Resorptionsverhältnis Leerversuch : Hauptversuch 1:7, nach 2o Stunden 1:1 beträgt. Auch unter Berücksichtigung einer beträchtlichen biologischen Streuung bei unseren Versuchen müssen wir

feststellen, daß aus den lebenden Bakterienleibern, wenn diese unter Umgehung des Magens direkt in das Duodenum gebracht werden, der Methionin-Schwefel eine beschleunigte Resorption erfährt; sei es nun, daß durch die relativ großen Bakterienzellwände eine erheblich vergrößerte Kontaktfläche mit der Wand der Darmschleimhaut entsteht und dadurch ein beschleunigter Austausch von resorbierbarem Zellsubstrat möglich wird, oder daß eventuell eine korpuskuläre Einschleusung von Zelleibern oder deren Teilen eine physiologische Gegebenheit darstellt, auf jeden Fall fällt die wesentlich höhere Resorptionsgeschwindigkeit des in den Zelleib von B.b. inkorporierten Methionin-Schwefels ins Auge, die auch SALAHI-ARAB registrieren konnte. Seine Meßwerte zeigen modifiziert die gleiche Tendenz und können somit als Kontrollwerte angesehen werden. Neueste Beobachtungen von VOLKHEIMER, die er am Schwein machte, zeigen, daß feste Partikel aus dem Chymus in das Stroma der Darmschleimhaut eingeknetet und durch das Lymphgefäßsystem via Ductus thoracicus in die Blutbahn eingeschleust werden. Diese Versuche führte er unter anderem mit Pflanzenzellen, Hefezellen, Pollen und Sporen durch. Der beschriebene Vorgang wird als parazellulärer, chylöser Resorptionsmechanismus bezeichnet, obwohl es sich nicht um eine Resorption

im eigentlichen Sinne handelt. Durch BESSAU und MAYER wissen wir, daß namentlich beim Desquamativkatarrh des Magendarmkanals im Säuglingsalter die Permeabilität der Darmschleimhaut durch Verlust des Deckepithels noch gesteigert ist; durch den Epitheldefekt entstehen Eintrittspforten auch für unphysiologische Keime, außerdem finden in dem neuen Milieu zahlreiche unphysiologische Keime optimale Wachstumsbedingungen und fördern so den Darmkatarrh. Schließlich drängt sich die Frage auf, ob die Bifidumflora des Säuglings hinsichtlich des Eiweißstoffwechsels eine analoge Bedeutung hat wie die gewaltige Mikrobenflora des Pansens, die nach den Forschungen von VIRTANEN und dessen Mitarbeiter NURMIKKO die Totalsynthese von Protein zustande bringt.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 6 Resorptionsversuche mit der Aminosäure Methionin bei weißen Ratten gemacht. Um die Resorbierbarkeit zu prüfen, injizierten wir zuerst in "Leerversuchen" drei Ratten unter Umgehung der Säure-Fermentschranke des Magens eine definierte Menge einer radioaktiven Methionin/Kochsalzverdünnung in das Duodenum. Der Nachweis von resorbiertem Substrat erfolgte nach 5, 10 und 20 Stunden in Serum und Leber. In drei parallel geführten "Hauptversuchen" wiederholten wir dasselbe mit einer Aufschwemmung von Bifidumbakterien, denen wir L-Methionin-S35 zugefüttert hatten. Nach 5 Stunden ist im Hauptversuch bereits das 7,6 -fache des Leerversuches an Aktivität in der Leber, das 2,8-fache im Serum registrierbar. Nach 1o Stunden liegen Serum- und Leberimpulsraten beim Leerversuch jeweils höher; nach 20 Stunden decken sich die Leberwerte beider Meßserien. Es hat also nach einer Zeitspanne von 5 Stunden eine beschleunigte Resorption des in den Zelleib von B.b. eingebauten Methionin-Schwefels stattgefunden. Es wird zur Diskussion gestellt, ob diese "Aminosäurenresorption" für den jungen Säugling, der in seinem Darm allerdings vorwiegend im Colon eine Bifidumflora beherbergt, von Bedeutung sei.

LITERATUR:

ADAM, A.:	Jb. Kinderheilk. 11o, 186 (1925)
ADAM, A.:	Säuglingsenteritis. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1956,
BACQ, Z.M., u. P. ALEXANDER:	Grundlagen der Strahlenbiologie. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1958
BESSAU, G.:	Mschr. Kinderheilk. 92, 137 (1943)
BEST, CH.H.:	Proc.roy.Soc.B. 145, 141-169 (1956)
CATEL, W.:	Jb. Kinderheilk. 126, 132 (193o)
CUMMINS, C.S.:	Nature (Lond.) 18o, 337 (1957)
DITTMANN, J.:	Mündliche Mitteilung.
GEIGY, J.R., AG:	Wissenschaftl. Tabellen, 6. Aufl., "Zerfallstabellen radioaktiver Isotope."
HERRMANN, G.:	Die einzelnen Besonderheiten der Isotopen und ihre Bestimmungen; in: Künstliche radioaktive Isotope, in Physiologie, Diagnostik und Therapie, hrsg.: von H. SCHWIEGK und F. TURBA. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961
HOFFMANN, K.:	Ernährungsforschung, Akademie Verlag Berlin 10, 405 (1965)
KANDLER, O. u. C. ZEHENDER:	Arch. Mikrobiol. 24, 41 (1956)
KIENITZ, M.:	Ernährungsforschung 10, 392 (1965)
KLING, C.:	Ann.Inst.Pasteur 28, 797 (1914)
LIEBSCHER, S.:	Z. Kinderheilk. 85, 265 (1961)
MAYER, J.B.:	Mschr. Kinderheilk. 114, 67 (1965)

MAYER, J.B., B. BURMEISTER, u. A. ROMAHN:	Z. Kinderheilk. 85, 216 (1961)
MAYER, J.B.:	Pädiatrie und Pädologie 1, 131 (1965)
MOSER, L.:	Z. Kinderheilk. 68, 25 (1950)
NURMIKKO, V.:	Ann.Acad.Sci.Fennicae, Ser.A, II, No. 54 (1954)
PETUELEY, F.:	Mschr. Kinderheilk. 104, 155 (1956)
REUTER, G.:	Ernährungsforschung 10, 429 (1965)
ROMAHN, A.:	Inauguraldiss. 1956
SCHMEISER, K.:	Allgemeiner Nachweis radioaktiver Isotope; aus SCHWIEGK u. TURBA: Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961
SEIDEL, J.:	Inauguraldiss., in Vorbereitung
SPIESS, U.:	Mschr. Kinderheilk. 40, 263 (1928)
THURAU, R.:	Eiweiß- und Kohlenhydrathaushalt bei Dystrophie; in: Säuglingsenteritis, hrsg. v. A.ADAM, Thieme Verlag, Stuttgart 1956
VIRTANEN, A.I.:	Umschau, H. 24, 77o (1963)
VOLKHEIMER, G.:	Ernährungsforschung 10, 28o (1965)
WEIS, U.:	Inauguraldiss. 1965

Herrn Prof. Dr.med. J.B. MAYER danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Beratung bei der Anlage der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt ferner Herrn Prof. Dr.rer.nat. H. MUTH für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes im Institut für Biophysik mit den benötigten Meßgeräten, sowie Herrn Dr.rer.nat., Dr.med. E. OBERHAUSEN für die Beratung bei dem Versuchsaufbau.

Herrn Dr.rer.nat. KÖSTER bin ich dankbar für die Betreuung bei der Meßtechnik.

Fräulein WÖLK danke ich für ihre Hilfe bei der Züchtung der Bakterien.

LEBENSLAUF

Am 18.12.1939 wurde ich, Jörg Wunderwald, als Sohn des Kinderarztes Dr.med. Alexander Wunderwald und seiner Ehefrau Elfi, geb. Bruhns, in Rostock geboren und im Jahre 1946 eingeschult. Im Jahre 1948 siedelten wir vorübergehend nach Oberstdorf/Allgäu über, wo ich 1 Jahr die Volksschule besuchte. Unseren endgültigen Wohnsitz schlugen wir dann im Jahre 1949 in Hausen bei Augsburg auf; dort besuchte ich vom 1.Sept.1951 bis zur Reifeprüfung im Juli 1960 das Humanistische Gymnasium bei St. Anna. Im November desselben Jahres wandte ich mich dem Medizinstudium in Freiburg zu, wo ich im Oktober 1961 das Vorphysikum und nach einem Zwischensemester im Winter 1963/1964 in Tübingen, im Oktober 1964 das Physikum ablegte. Die ersten beiden klinischen Semester studierte ich in Innsbruck, inskribierte mich darauf für das Wintersemester 1965/66 an der Universität des Saarlandes und bestand hier am 22.1.1968 das Staatsexamen.